

微波促进下沙芬酰胺甲磺酸盐的合成

于月娜*, 房芳

南方科技大学化学系, 广东 深圳 518055

摘要: 本文基于一款治疗阿尔兹海默症的药物——沙芬酰胺甲磺酸盐进行教学设计, 以4-(3-氟苄氧基)苯甲醛为起始原料, 引入微波合成技术, 采用还原胺化策略, 经过三步反应, 迅速、高效得到目标产物, 并采用核磁、熔点和旋光分析方法鉴定结构与纯度。实验设置既兼顾有机综合实验技术的训练, 又注重知识的交叉融合。

关键词: 沙芬酰胺; 微波合成; 还原胺化

中图分类号: G64; O6

Microwave-Assisted Synthesis of Safinamide Methanesulfonate

Yuena Yu*, Fang Fang

Department of Chemistry, Southern University of Science and Technology, Shenzhen 518055, Guangdong Province, China.

Abstract: This study focuses on the design of a teaching experiment of synthesizing safinamide methanesulfonate, a drug for treating Alzheimer's disease. Starting from 4-(3-fluorobenzyloxy)benzaldehyde, the microwave synthesis technique was employed in a reductive amination strategy to rapidly and efficiently obtain the target product through three consecutive reactions. The product's structure and purity were confirmed through NMR, melting point, and specific rotation analysis. This experiment not only enhances students' organic synthesis skills but also emphasizes the integration of knowledge across disciplines.

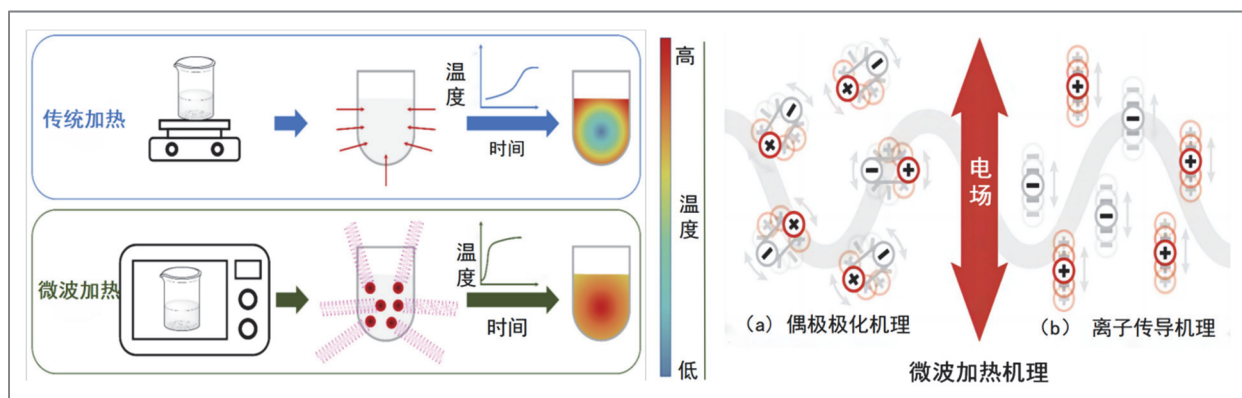
Key Words: Safinamide methanesulfonate; Microwave-assisted synthesis; Reductive amination

创新药物的研发是一个复杂、漫长的过程, 有机合成技术在药物研发中具有至关重要的作用。现代合成技术的引入, 有助于加速化合物的获取, 从而加快新药研发的速度, 降低研发成本, 并提高药物的质量^[1]。微波合成技术是一种先进的有机合成方法, 具有绿色、高效等优点, 与传统辐射加热相比, 微波能够深入物质的内部, 通常完成整个加热过程用时只需传统方法的十分之一到百分之一, 大幅缩短了加热时间, 提高了效率和热能利用率(图1)。因此, 微波合成技术在药物研发领域具有广泛的应用前景^[2,3]。微波技术主要通过两种机制——偶极极化和离子传导使体系内偶极分子高频往复运动, 产生“内摩擦热”, 从而使体系温度升高, 物质在微波场中所产生的热量大小与物质种类及其介电特性有很大关系, 通过结合微波加热技术, 可以实现更高效、更精确的化学反应控制^[4]。与此同时, 化学实验教学是培养学生实践能力和创新精神的重要环节, 内容需紧跟学科前沿, 因此将微波合成技术在创新药物研发中的应用与实验教学相互融合, 转化为具有前沿性、挑战性、特色鲜明的创新型教学实验, 可以让学生更快、更直接地接触到前沿成果、体会创新过程, 从而有效地激发他们的创新积极性, 进而助力学生成长为拔尖创新人才^[5]。

收稿: 2024-01-26; 录用: 2024-03-06; 网络发表: 2024-04-09

*通讯作者, Email: yuyn@sustech.edu.cn

基金资助: 南方科技大学高等教育教学改革项目(Y01211842)

图1 传统加热和微波加热的差异示意图^[6]

本文基于一款治疗阿兹海默症的药物——沙芬酰胺甲磺酸盐(safinamide methanesulfonate)设计了一个综合性有机教学实验^[7]。实验以4-(3-氟苄氧基)苯甲醛为起始原料,引入微波促进的合成技术,通过还原胺化策略,合成药物分子沙芬酰胺甲磺酸盐,反应中间产物无需纯化,方法简单高效。最终产物通过核磁、熔点和旋光测试手段进行表征。此外,通过制作实验全过程操作视频^[8],有效提高了课前预习的质量与效率。此合成策略的关键步骤是还原胺化反应,实验方案的突出特点是利用微波加热技术提高反应效率,学生不仅可以加深对还原胺化反应机理的理解,还可以学习微波合成仪的原理和操作,此外还可以巩固抽滤、重结晶等实验操作,以及核磁共振波谱仪、自动熔点仪和自动旋光仪等仪器操作。

1 实验目的

- (1) 学习微波合成仪的工作原理和使用方法。
- (2) 了解沙芬酰胺甲磺酸盐药物的靶点和作用机制。
- (3) 掌握使用微波合成仪制备沙芬酰胺甲磺酸盐的原理和实验操作。

2 背景介绍

2.1 沙芬酰胺作用机制

沙芬酰胺是一种单胺氧化酶B抑制剂(monoamine oxidase-B inhibitors, MAO-BI),主要是通过选择性抑制位于细胞线粒体外膜上的单胺氧化酶B(monoamine oxidase-B, MAO-B)的活性,从而减少内源性和外源性多巴胺分解,提高脑内多巴胺浓度,延长多巴胺的作用时间,改善临床症状(图2);此外,它还可以阻断电压依赖的钠通道、调节钙通道和抑制谷氨酸释放^[9-12]。作为第3代MAO-B抑制剂,与第1代药物司来吉兰、第2代药物雷沙吉兰相比,沙芬酰胺具有更高的选择性,而且抑制作用是可逆的,在使用沙芬酰胺治疗阿兹海默症时,不良反应的发生减少,且生物安全性更高^[13]。

2.2 合成路线

文献中报道的沙芬酰胺甲磺酸盐的合成方法多以间氟溴苄和对羟基苯甲醛为起始原料,经醚化、醛胺缩合、还原、成盐、纯化得到目标化合物沙芬酰胺甲磺酸盐^[14,15](图3中a路线)。为了高效得到高纯度且不存在毒性副产物的目标产物,反应条件的优化发挥至关重要的作用。2021年,Omori等人^[7]开发了一个两小时合成沙芬酰胺甲磺酸盐的方法,合成路线包括四步反应,总收率为64%。前三步利用微波加热,中间体无需色谱纯化。本实验教学方案以Omori等人的工作为基础,考虑到教学时长的问题,实验以4-(3-氟苄氧基)苯甲醛为起始原料,在微波加热条件下进行醛胺缩合和还原反应,最后盐化得到沙芬酰胺甲磺酸盐(图3中b路线)。为了提高实验的可操作性,反应底物由文献的0.5 mmol提高到了2 mmol,最后产物通过重结晶操作纯化,以提高产物的纯度。

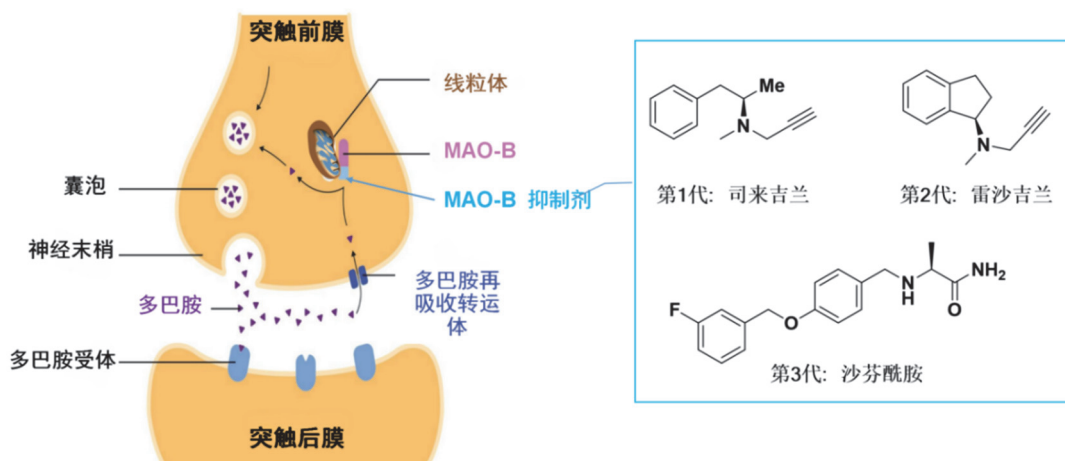
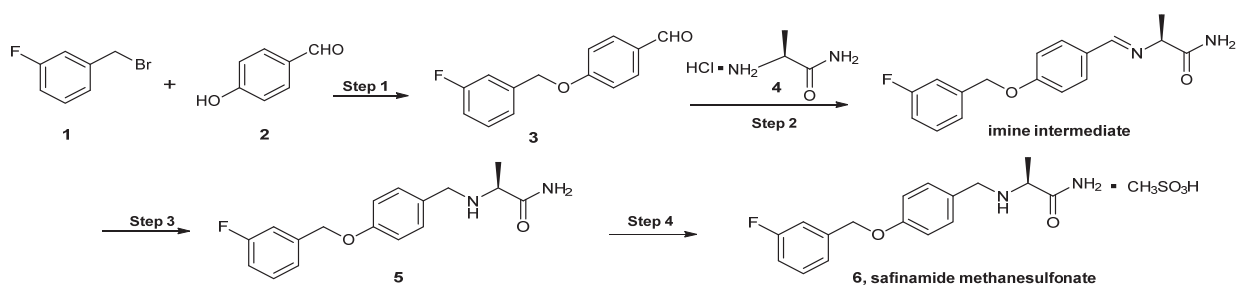


图2 MAO-B 抑制剂在多巴胺代谢中的作用机制



Step	Step 1	Step 2	Step 3	Step 4	yield
方案					
a 传统合成路线	K_2CO_3 , acetone, 60 °C, 2 h (83% yield)	Et_3N , MeOH, rt, 15 h	NaBH_3CN , MeOH, 55 °C, overnight	$\text{CH}_3\text{SO}_3\text{H}$, EtOAc, 55 °C, 1 h	53% yield for 3 steps
b 本实验路线	—	DIPEA, MeOH, MW, 55 °C, 1 h	NaBH_3CN , MW, 55 °C, 0.5 h	$\text{CH}_3\text{SO}_3\text{H}$, EtOAc, 55 °C, 1 h	66% yield for 3 steps

图3 实验路线

3 试剂与仪器

3.1 试剂

4-(3-氟苄氧基)苯甲醛、L-丙氨酸盐酸盐、甲醇、*N,N*-二异丙基乙胺(DIPEA)、氰基硼氢化钠、甲磺酸、 DMSO-d_6 、二氯甲烷、石油醚、乙酸乙酯、无水硫酸钠，以上试剂均为分析纯；海砂、硅胶等。

3.2 仪器

微波反应仪(瑞典Biotage, Initiator+)、10 mL微波反应管、分析天平、电磁搅拌器、旋转蒸发仪、圆底烧瓶、回流冷凝管、分液漏斗、砂芯漏斗、锥形瓶、磁子、移液枪、注射器、微量注射器、翻口塞、核磁仪(德国Bruker 400 MHz, 600 MHz)、自动熔点仪(美国MettlerToledo, MP55)、自动旋光仪(美国Rudolph, AUTOPOL I)等。

4 实验步骤^[8]

4.1 沙芬酰胺的合成

10 mL微波反应管中依次加入专用磁子、4-(3-氟苄氧基)苯甲醛(460 mg, 2.0 mmol)和L-丙氨酸盐酸盐(300 mg, 2.4 mmol)，然后加入干燥甲醇(2 mL, 注射器量取)和*N,N*-二异丙基乙胺(340 μL , 2.0 mmol)，开启搅拌，固体完全溶解后将反应管加盖密封。

将反应管放置到微波反应仪的样品架上, 设置仪器参数(反应时间1 h, 温度55 °C, 预搅拌时间30 s, 吸收设为“high”), 点击开始反应。

反应结束后, 取出反应管, 打开管盖, 然后将反应管固定在搅拌器上, 在搅拌下缓慢加入氰基硼氢化钠(250 mg, 2.0 mmol), 继续搅拌至无明显气泡产生, 加盖密封。

再次使用微波反应仪加热(仪器参数: 反应时间30 min, 温度55 °C, 预搅拌时间30 s, 吸收设为“high”)。反应结束后, 取出反应管, 打开管盖, 加入5 mL水淬灭反应, 然后将反应液转移至50 mL分液漏斗。乙酸乙酯(20 mL)萃取, 收集有机相。有机相经无水硫酸钠干燥、过滤、旋转蒸发仪旋除溶剂, 最后得到沙芬酰胺粗产品(无色至浅黄色液体)。

4.2 沙芬酰胺甲磺酸盐的合成

粗产品转移至50 mL圆底烧瓶中, 加入搅拌子和10 mL乙酸乙酯, 开启搅拌, 加热溶液至55 °C, 用微量注射器向反应瓶中逐滴加入甲磺酸(150 μ L, 2.8 mmol), 体系中有白色固体析出, 滴加完毕后继续搅拌。1 h后停止加热, 溶液冷却至室温, 然后转移至冰浴中继续冷却, 促进晶体析出。减压过滤收集固体, 粗产品用乙醇和水体系重结晶(90/10, 约5 mL)、真空干燥箱干燥, 最后得到目标产物。

4.3 结构表征

(1) 核磁共振测试。

取一根洁净的核磁管, 依次加入约10 mg样品、0.4 mL氘代二甲亚砜, 样品完全溶解后进行核磁氢谱和碳谱测试。

(2) 熔点测试。

取少量干燥的样品于研钵中, 研磨成粉末, 然后将样品装入毛细管中, 将毛细管放置在自动熔点仪的样品架上, 设置仪器参数(开始温度200 °C, 等待时间10 s, 加热速率1.0 °C \cdot min⁻¹, 结束温度210 °C), 测量样品熔点。

(3) 比旋光度测试。

选取5 mL或10 mL容量瓶, 配制浓度约为1 g/100 mL的溶液。使用分析天平准确称量样品(记录天平显示的数值), 然后将样品加入容量瓶中, 用乙酸溶解, 定容后摇匀备用。根据样品质量换算浓度(g/100 mL), 然后使用自动旋光仪测量产品的比旋光度。

5 实验结果与讨论

本实验在大学有机化学实验课程中的开设和完成情况非常理想, 学生们对微波合成技术及其在药物合成领域中的应用展现出浓厚的兴趣与热情。在严格按照实验讲义的指导进行实验时, 绝大多数实验组都能够顺利完成实验, 实验的总体收率在50%–70%之间, 这也反映了学生们的实验操作能力和对微波合成技术的掌握程度。熔点测定结果总体较为理想, 与文献报道的数据相比, 误差在可接受的范围内。在比旋光度测试中, 由于该测试对溶液浓度的准确性要求较高, 需要对学生的操作进行实时的指导和纠正, 以确保实验数据的准确性和可靠性, 同时也提高了学生的实验技能和科学素养。下面, 以一组学生的实验数据为例, 详细分析产物的相关数据(图4、图5)。

反应得到白色固体506 mg, 三步总收率为65.8%, 熔点为206.1 (参考文献[16], mp 210 °C), 比旋光度 $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +12.7$, $c = 0.95$, AcOH (参考文献[15], $[\alpha]_{\text{D}}^{26} = +12.9$, $c = 1.0$, AcOH)。¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.04 (s, 1H), 9.01 (s, 1H), 7.93 (s, 1H), 7.64 (s, 1H), 7.47–7.38 (m, 3H), 7.31–7.25 (m, 2H), 7.16 (t, $J = 8.6$ Hz, 1H), 7.07 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 5.17 (s, 2H), 4.08–3.96 (m, 2H), 3.74 (q, $J = 6.9$ Hz, 1H), 2.33 (s, 3H), 1.41 (d, $J = 7.0$ Hz, 3H)。¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ 170.9, 162.7 (d, $J_{\text{CF}} = 243.4$ Hz), 159.0, 140.3 (d, $J_{\text{CF}} = 7.3$ Hz), 132.1, 131.0 (d, $J_{\text{CF}} = 8.5$ Hz), 124.4, 124.0 (d, $J_{\text{CF}} = 2.3$ Hz), 115.4, 115.1 (d, $J_{\text{CF}} = 20.7$ Hz), 114.7 (d, $J_{\text{CF}} = 21.8$ Hz), 68.8, 54.6, 48.4, 16.4。

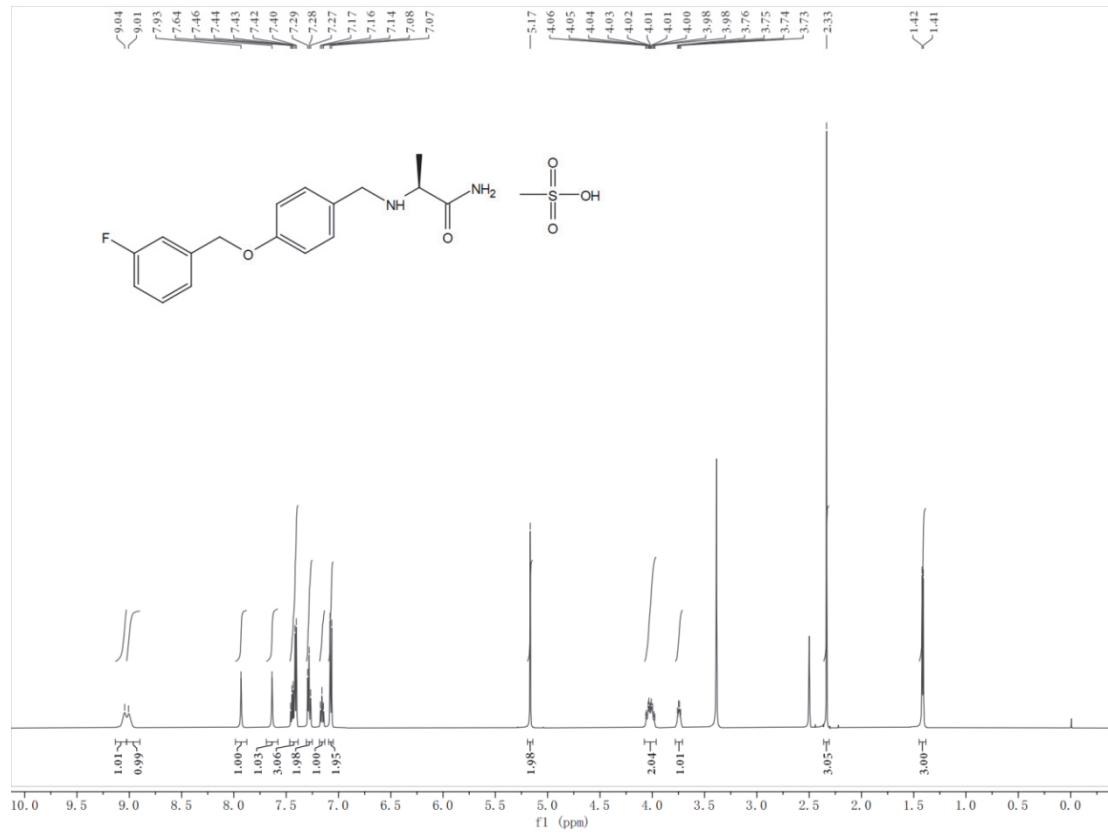


图4 产物核磁氢谱

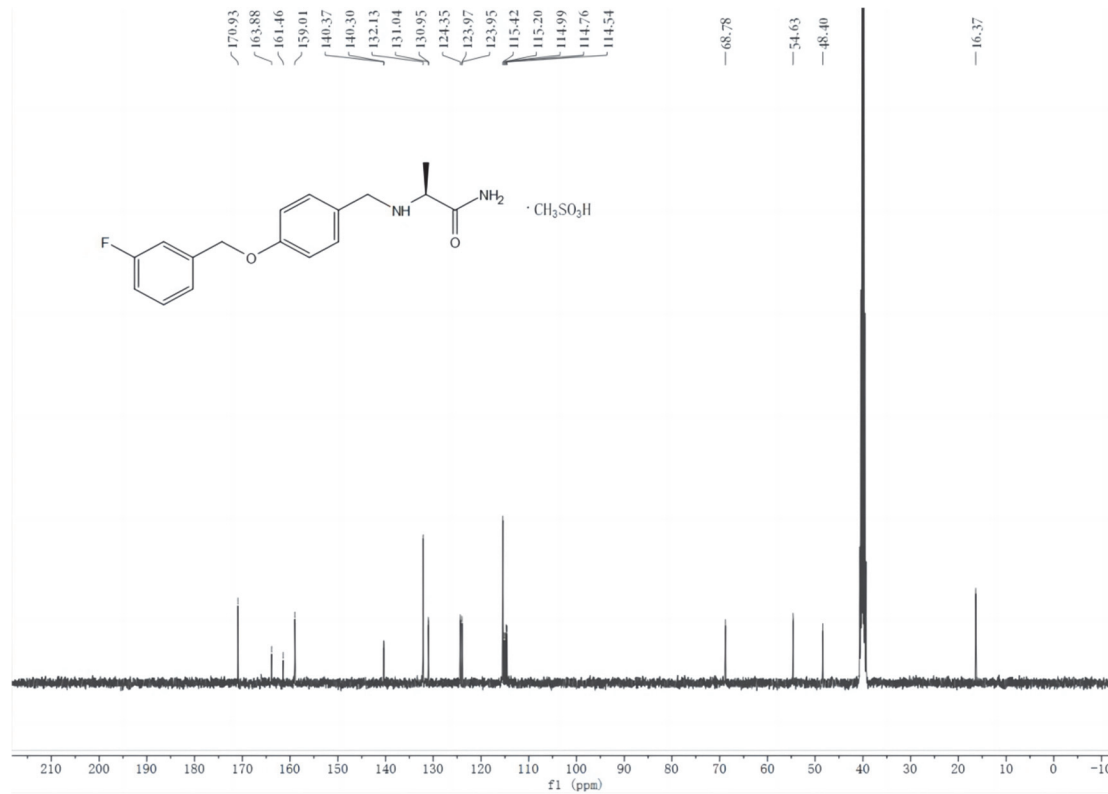


图5 产物核磁碳谱

沙芬酰胺甲磺酸盐是一款具有光学活性的药物，含有一个手性中心，此实验方案终产物的手性由原料L-丙氨酸盐酸盐引入。对于手性药物而言，光学纯度直接影响药物的稳定性、安全性和有效性，因此必须检测产品的光学纯度。本实验通过比较终产物比旋光度与文献数值的差异，以表征产品的光学纯度。沙芬酰胺甲磺酸盐结构中含有一个氟原子，在解析产物核磁共振谱的过程中，需要考虑氟元素对碳谱的裂分规律。

6 注意事项

- (1) 检查微波反应管是否有裂痕，如发现裂痕请勿继续使用。
- (2) 微波反应管内壁不允许有固体颗粒，建议先加固体样品再用溶剂冲洗残留在内壁上的固体样品，使其浸没在溶剂内。
- (3) 微波反应温度最大设定值不宜超过所用溶剂沸点50 °C，反应压力控制在1.5 MPa以内。
- (4) 实验中使用到氰基硼氢化钠和甲磺酸，具有一定危险性，课前需要充分了解试剂的理化性质、潜在的风险以及后处理方法，做好个人防护措施和应急措施。

7 教学安排

本实验是面向本科生三年级开设的综合性有机化学实验，需要12学时完成，其中合成操作8学时，结构表征4学时。实验以小组形式开展，每组2-3人。课前，学生需要根据课程讲义、实验操作视频等资料完成预习报告。课上，教师讲解实验的基本原理以及仪器原理和操作等内容。由于受微波反应仪数量的限制，开展实验的时间可采取预约制，教学实验室半开放，以组为单位灵活安排实验时间，教师全程指导。课后，学生分析总结实验现象和实验数据，完成实验报告和思考题，并在充分理解本实验知识内容基础上，以小组为单位拓展完成“微波加热的机制与发展”“甲磺酸的合成方法综述”“MAO-B抑制剂的作用机制”等相关专题汇报。

8 结语

本实验设计注重科教融合，将微波合成技术引入教学实践。实验不仅具有高阶性和挑战性，要求学生具备扎实的理论知识，而且反应迅速、操作难度适中，降低了实验成本和时间成本，比较适合本科实验教学。通过实验，学生将有机会探索和实践学科新内容和新方法。更重要的是，学生可以深刻认识到现代有机合成技术在创新药物研发中的重要作用，从而增强使命感和责任感。

参 考 文 献

- [1] 万福贤, 王日为, 于斌, 张元红, 李映, 张丽丽, 艾仕云, 姜林. *大学化学*, **2020**, 35 (12), 110.
- [2] Kappe, C. O.; Stadler, A.; Dallinger, D. *Microwaves in Organic and Medicinal Chemistry*, 2nd ed.; Wiley-VCH Verlag & Co. KGaA: Weinheim, Germany, 2012; pp. 1-3.
- [3] 周宇, 张磊, 栗增, 柳红. *药学报*, **2013**, 48 (5), 1014.
- [4] 许家喜. *化学进展*, **2007**, 19 (5), 700.
- [5] 赵梦龙, 苑岱雷, 叶梓, 房芳, 于月娜. *大学化学*, **2022**, 37 (5), 2109108.
- [6] Gabano, E.; Ravera, M. *Molecules* **2022**, 27 (13), 4249.
- [7] Higa, V. M.; Omori, A. T. *Synlett* **2021**, 32 (14), 1433.
- [8] 微波促进下沙芬酰胺甲磺酸盐的合成. [2024-01-25]. <http://chemlab.chem.sustech.edu.cn/Wluo-videodetail-id-88.html>
- [9] Makoto, N.; Wakako, M. *Curr. Pharm. Design* **2010**, 16 (25), 2799.

- [10] Blair, H. A.; Dhillon, S. *CNS Drugs* **2017**, 31 (2), 169.
- [11] Stocchi, F.; Torti, M. *Drug Des. Dev. Ther.* **2016**, 10, 609.
- [12] Tong, J.; Meyer, J. H.; Furukawa, Y.; Boileau, I.; Chang, L.; Wilson, A. A.; Houle, S. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* **2013**, 33 (6), 863.
- [13] Dezsi, L. V. L. *CNS & Neurol. Disord.-Drug Targets* **2017**, 16 (4), 425.
- [14] Flick, A. C.; Ding, H. X.; Leverett, C. A.; Kyne, R. E. Jr.; Liu, K. K. C.; Fink, S. J.; O'Donnell, C. J. *J. Med. Chem.* **2017**, 60 (15), 6480.
- [15] Park, K. D.; Yang, X.-F.; Dustrude, E. T.; Wang, Y.; Ripsch, M. S.; White, F. A.; Khanna, R.; Kohn, H. *ACS Chem. Neurosci.* **2015**, 6 (2), 316.
- [16] Pevarello, P.; Bonsignori, A.; Dostert, P.; Heidempergher, F.; Pinciroli, V.; Colombo, M.; McArthur, R. A.; Salvati, P.; Post, C.; Fariello, R. G.; *et al. J. Med. Chem.* **1998**, 41 (4), 579.